

УДК 617.559–007.271:591.4–57.081.4

© Коллектив авторов, 2013

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЯСНИЧНОГО СПИНАЛЬНОГО СТЕНОЗА

Л. М. Бенгус, Н. В. Дедух, А. Г. Чернышов, А. А. Левшин, И. Ф. Федотова

Лаборатория морфологии соединительной ткани (зав. лаб. — проф. Н. В. Дедух), ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М. И. Ситенко НАМН Украины». 61024 Украина, м. Харьков, вул. Пушкінська, 80.
E-mail: L.Bengus@i.ua

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF EXPERIMENTAL MODELING OF LUMBAR SPINAL STENOSIS

L. M. Bengus, N. V. Dedukh, A. G. Chernyshov, A. A. Levshin, I. F. Fedotova

SUMMARY

The purpose of the study was to investigate the morphological features of the spinal canal structure and nerve tissue in white rats in an experimental model of lumbar spinal stenosis. Using histological methods, we have established that this experimental model is characterized by severe destructive changes of the bone tissue that forms the dura mater of the spinal cord. In the cauda equina nerve roots, leukocyte infiltration, hyperaemia and stasis of the endo-perineural vessels, vacuolization and destruction were observed. Bone sequesters were present in the spinal canal at the level of stenosis modeling. In the epidural space, we revealed extensive hemorrhages, empty blood vessels and signs of chronic inflammation, which contributed to progression of epidural fibrosis and hyalinosis.

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ПОПЕРЕКОВОГО СПІНАЛЬНОГО СТЕНОЗУ

Л. М. Бенгус, Н. В. Дедух, О. Г. Чернышов, А. А. Левшин, И. Ф. Федотова

РЕЗЮМЕ

Мета дослідження — вивчення морфологічних особливостей будови хребтового каналу і нервової тканини у щурів в ділянці моделювання поперекового спінального стенозу. За допомогою гістологічних методів встановлено, що при моделюванні стенозу мали місце виражені деструктивні зміни кісткової тканини, що формує тверду оболонку хребтового каналу. У нервових корінцях кінського хвоста визначалися лейкоцитарна інфільтрація, гіперемія і стаз судин ендо- та периневрію, вакуолізація та деструкція. У хребтовому каналі на рівні моделювання стенозу присутні кісткові секвестри, в епідуральному просторі виявлялися великі крововиливи, пусті кровоносні судини і ознаки хронічного запалення, що сприяло прогресуванню епідурального фіброзу та гіалінозу.

Ключевые слова: поясничный спинальный стеноз, моделирование, морфология.

Поясничный спинальный стеноз относится к категории вертебральных заболеваний, при которых снижение объема позвоночного канала приводит к компрессии невралных элементов [1]. Согласно данным NASS около 20% взрослого населения планеты страдает от этой патологии [2]. Дегенеративный поясничный спинальный стеноз, будучи поздним и тяжелым последствием дегенеративных изменений в позвоночном двигательном сегменте, является наиболее распространенной формой стеноза. Частота дегенеративного стеноза повышается с возрастом [3, 4]. Дегенеративный стеноз может быть связан с оссификацией грыжи межпозвоночного диска, гипертрофией и оссификацией задней продольной и желтой связок, нестабильностью, гипертрофическими изменениями и дислокацией дугоотростчатых суставов, наличием остеофитов, антелистезом, ретролистезом и латеролистезом позвонков, системными заболеваниями и т. д. [5]. Дегенеративный стеноз чаще всего поражает L₃-L₄, L₄-L₅ и L₅-S₁ позвоночные двигательные сегменты [6].

На начальных этапах заболевание может протекать бессимптомно, в дальнейшем — сопровождаться неврологическими нарушениями

и приводит к значительной потере трудоспособности, невозможности самообслуживания и как следствие — к снижению качества жизни больных. Неврологическая симптоматика при дегенеративном стенозе обусловлена компрессией интраканальных образований, однако патогенетически она связана и с другими факторами: нарушением трофики нервных корешков из-за дисциркуляторных влияний (венозный стаз), пери- и эндоневрального воспаления и др. Клиническая симптоматика поясничного спинального стеноза более выражена в положении «стоя», за счет уменьшения размеров позвоночного канала вследствие выпячивания в его просвет соединительно-тканых элементов, формирующих его стенки. В положении флексии диаметр позвоночного канала увеличивается, при этом клинические симптомы стеноза уменьшаются за счет снижения компрессии интраканальных образований [2].

Учитывая имеющийся в настоящее время феномен «омоложения» дегенеративных заболеваний позвоночника и, соответственно, снижение возраста появления клинических симптомов стенозирования позвоночного канала, становится понятным интерес к углубленному изучению его этиопатогенеза. В свя-

зи с этим представляют интерес экспериментальные модели этого состояния, выполненные на животных, позволяющие в динамике проследить этапы формирования поясничного спинального стеноза, в том числе морфологические.

Цель исследования — изучить морфологические особенности строения позвоночного канала и нервной ткани у белых крыс в области экспериментального моделирования поясничного спинального стеноза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное моделирование поясничного спинального стеноза было выполнено на 15-ти белых половозрелых крысах-самцах. С этой целью дугу L₅ пересекали справа и слева от остистых отростков. Затем отделяли среднюю часть дуги (с остистым отростком) от других частей дуги и суставных отростков. Отделенную часть дуги с прикрепленными желтыми связями смещали в вентральном направлении в полость позвоночного канала. Контакты костных краев фиксировали костным цементом.

Рентгенологические исследования, выполненные через 1 неделю, 1 и 3 мес после операции показали, что локализация и степень стеноза у животных оставались неизменными. Через одну неделю, 1 и 3 мес после моделирования стеноза животных выводили из эксперимента путем передозировки эфира. При этом руководствовались международными стандартами по биоэтике [7, 8].

Для гистологического исследования были использованы фрагменты поясничного отдела позвоночника 15-ти белых крыс. Фрагменты позвоночника были взяты на уровне L₄-L₆ сегментов. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. После дегидратации в серии спиртов возрастающей концентрации материал заключали в целлоидин [9]. Гистологические срезы, толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование материала осуществляли с помощью светового микроскопа «Primostar». Фотоотпечатки гистопрепаратов изготавливали с помощью цифровой фотокамеры Canon EOS-300D.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

7 суток после моделирования стеноза. Морфологический анализ костной ткани, формирующей канал спинного мозга крыс с экспериментальным стенозом, показал, что она имеет выраженные нарушения структурной организации. Через 7 суток после моделирования стеноза в костной ткани на значительном протяжении присутствовали остециты с кариопикнозом и клетки-тени. Многочисленные костные лакуны содержали остатки остецитов в виде клеточного детрита, часто встречались пустые лакуны без остецитов. Значительная часть остецитов была расположена в расширенных лакунах

резорбционного типа, что свидетельствует об активизации периостеоцитарного остеолита.

В костном матриксе стенок позвоночного канала имели место различные по интенсивности деструктивные изменения. Определялась очаговая базофилия матрикса, расслоение пучков и демаскирование коллагеновых волокон, формирование крупных по размерам и вариабельных по локализации деструктивных щелей.

Микроскопически на уровне позвонка L₅ в канале спинного мозга выявлялась терминальная нить, окруженная нервными корешками конского хвоста, и оболочки спинного мозга. В составе терминальной нити различают внутреннюю часть, имеющую значительное количество нервной ткани, и наружную — не содержащую нервной ткани и являющуюся продолжением мозговых оболочек. В терминальной нити отмечены признаки деструкции нервных волокон и пери-эндоневральный отек. Имели место дистрофические изменения невральных структур конского хвоста, проявляющиеся гиперемией сосудов периневрия (рис. 1). В части нервных корешков конского хвоста отмечена деструкция и вакуолизация. В эпидуральном пространстве позвоночного канала выявлялись очаги геморрагии.

Как известно, одной из главных причин, вызывающих симптоматику поясничного спинального стеноза является ишемия, вызывающая нарушение кровоснабжения позвоночного двигательного сегмента и, соответственно, его невральных элементов [10]. Наблюдаемые нами явления гиперемии кровеносных сосудов в области периневрия и эндоневрия нервных корешков, а также очаги геморрагии в эпидуральном пространстве свидетельствуют о глубоких нарушениях в системе кровоснабжения невральных элементов, имеющих место в данной экспериментальной модели.

1 месяц после моделирования стеноза. Через 1 месяц после моделирования стеноза в нервных корешках конского хвоста определялась выраженная



Рис. 1. Нервные корешки конского хвоста. Гиперемия сосудов периневрия. Гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 4

лейкоцитарная инфильтрация. На фоне нарастания гиперемии и стаза эндоневральных сосудов отмечено прогрессирующее разрушение нервных корешков, сопровождающееся их выраженной вакуолизацией (рис. 2). В позвоночном канале возле деструктивно измененных нервных корешков присутствовали костные секвестры. В эпидуральном пространстве на большом протяжении имели место обширные кровоизлияния (рис. 3), определялись массивы соединительной ткани. В фиброзной ткани, занимающей значительные территории эпидурального пространства, выявлялись также периваскулярные инфильтраты и запустевшие кровеносные сосуды.

Как известно, хроническая компрессия нервных корешков, имеющая место при спинальном стенозе, приводит к отеку и фиброзу этих структур, вызывает повышение их возбудимости. Патолого-анатомические исследования показали также наличие стаза крови в кровеносных сосудах стенозированного позвоночного канала и гипоксии, что обусловлено действием механических факторов, и приводит к увеличению функциональных нарушений в невральных структурах [2]. Отмеченное

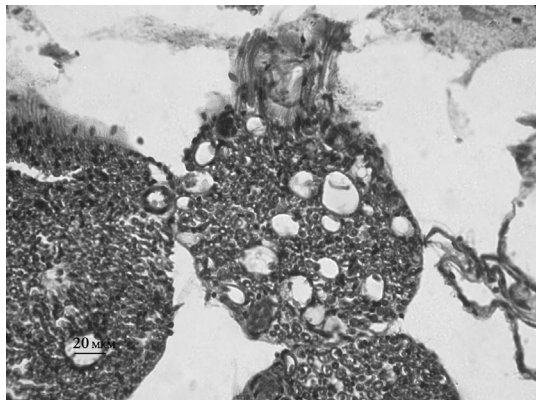


Рис. 2. Выраженная вакуолизация и деструкция нервных корешков. Гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 40

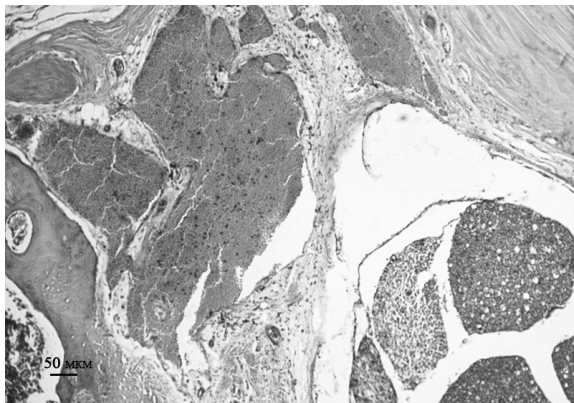


Рис. 3. Обширные кровоизлияния и фиброз в эпидуральном пространстве. Деструкция и вакуолизация нервных корешков. Гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 10

нами нарастание ангиогенной патологии (гиперемия и стаз пери-эндоневральных сосудов нервных корешков, обширные кровоизлияния в эпидуральном пространстве) свидетельствовало о прогрессировании ишемии в области экспериментального воспроизведения стеноза. Присутствие запустевших кровеносных сосудов в эпидуральной фиброзной ткани указывало на появление очагов полного отсутствия кровоснабжения.

3 месяца после моделирования стеноза.

На данный срок исследования в костной ткани, формирующей стенки позвоночного канала, количество и размеры деструктивных щелей увеличивались. На поверхности твердой оболочки канала спинного мозга наблюдались одиночные локальные наслоения новообразованной костной ткани с высокой плотностью молодых остецитов, что указывает на течение регенеративных процессов в данном регионе. Однако эти слабые попытки к регенерации не способны компенсировать те глубокие нарушения структурной организации костной ткани, которые имеют место на фоне воспроизведения данной экспериментальной модели.

На поверхности фиброзного кольца межпозвоночного диска и костной ткани тел позвонков, образующих ventральную поверхность позвоночного канала, выявлялись массивы молодой соединительной ткани с высокой плотностью крупных фибробластов. Эта ткань на участках граничила с присутствующими в позвоночном канале костными секвестрами. В нервных корешках конского хвоста сохранялись деструктивные изменения, отмеченные через 1 мес наблюдения. Кроме деструкции, в спинномозговом канале имела место фрагментация нервных корешков и присутствовали костные секвестры. На этом фоне выявлялась фибризация отдельных нервных корешков, что указывает на наличие хронического воспаления в позвоночном канале. Области деструкции нервных корешков были заполнены массивами фиброзной ткани.

В канале спинного мозга прогрессировал эпидуральный фиброз (рис. 4). Фиброзная ткань



Рис. 4. Выраженный эпидуральный фиброз канала спинного мозга. Гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 10

содержала мощные разнонаправленные пучки коллагеновых волокон. Клеточный состав ее был представлен фибробластами и сплюснутыми удлинными фиброцитами, являющимися конечной стадией дифференциации клеток фибробластического дифферона. Поля эпидурального и периневрального фиброза чередовались с участками гиалиноза. В зоне периневрия наблюдались массивные диапедезные кровоизлияния, что указывало на то, что с течением времени ишемические нарушения сохранялись. На значительном протяжении поля фиброзной ткани, локализованные в эпидуральном пространстве, имели признаки выраженного отека и содержали очаги деструкции.

ВЫВОДЫ

Анализ результатов морфологического исследования показал, что в условиях экспериментального моделирования у крыс поясничного спинального стеноза имели место выраженные патологические изменения костной ткани. На значительном протяжении наблюдались участки деструкции клеток и матрикса. Присутствовали клетки-тени, костные лакуны, содержащие клеточный детрит и пустые лакуны без остеоцитов. Значительная часть лакун остеоцитов была расширена, что свидетельствует об активизации периостеоцитарного остеолита. В костном матриксе присутствовали деструктивные щели, количество и размеры которых со временем увеличивались. Через 3 мес после экспериментального моделирования поясничного спинального стеноза в костной ткани, формирующей его стенки, определялись трещины и большие щели. Слабые проявления регенераторных процессов не способны компенсировать глубокие деструктивные изменения, имеющие место на фоне воспроизведения данной экспериментальной модели.

В нервных корешках конского хвоста и терминальной нити определились лейкоцитарная инфильтрация, гиперемия и стаз сосудов эндо- и периневрия, вакуолизация и деструкция. С течением времени отмечено прогрессирование деструкции, фрагментация нервных корешков, а также их локальная фибротизация.

В позвоночном канале на уровне экспериментального воспроизведения спинального стеноза присутствовали костные секвестры, в области эпидурального пространства выявлялись обширные кровоизлияния, запустевшие кровеносные сосуды,

определялись признаки хронического воспалительного процесса, что способствовало прогрессированию эпидурального фиброза и гиалиноза.

Настоящая работа выполнена в рамках законченной плановой НИР института «Вивчити механізми розвитку дегенеративного стенозу поперекового відділу хребетного каналу»/2010–2012/Шифр ЦФ.2010.1.АМНУ № госрегистрации 01.10.У.0020.88

ЛИТЕРАТУРА

1. Продан А. И. Стеноз поясничного отдела позвоночного канала/Автореф. дис. ... д-ра мед. наук — Харьков, 1994. — 38 с.
2. Baeza-Noci J. Spinal Ozone Therapy in Lumbar Spinal Stenosis//Int. J. Ozone Therapy. — 2007. — Vol. 6. — P. 17–24.
3. Продан А. И. Ортопедические аспекты хирургического лечения стеноза позвоночного канала// Ортопед., травматол. и протезир. — 2005. — № 1. — С. 93–98.
4. Абдуллаев Р. Я. Новые аспекты диагностики стеноза позвоночного канала/Р. Я. Абдуллаев, С. А. Пономаренко//Международный медицинский журнал. — 2005. — № 3. — С. 106–109.
5. Postacchini F. Management of lumbar spinal stenosis. Instructional course lecture//J. Bone Jt Surg. — 1996. — Vol. 78-B. — N. 1. — P. 154–164.
6. Spengler D. M. Current Concepts Review Degenerative Stenosis of the Lumbar Spine//J. Bone Jt Surg. — 1987. — Vol. 69-A. — N 2. — P. 305–308.
7. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс]/Верховна Рада України. — Офіц. веб-сайт. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
8. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
9. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника/Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова//М.: Медицина, 1996. — 542 с.
10. Katz J. N. Lumbar Spinal Stenosis/J. N. Katz, M. B. Harris//New Engl. J. Med. — 2008. — Vol. 358. — P. 818–825.